

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° d publication :

(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 306 684

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 75 11437

(54) **Nouvelle composition à action immunostimulante.**

(51) Classification internationale (Int. Cl.²). **A 61 K 31/045.**

(22) Date de dépôt **11 avril 1975, à 16 h 2 mn.**

(33) (32) (31) Priorité revendiquée :

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande **B.O.P.I. — «Listes» n. 45 du 5-11-1976.**

(71) Déposant : **Société anonyme dite : LABORATOIRES CRINEX, résidant en France.**

(72) Invention de : **Marie-Louis Renoux, Guy De Montis et Alain Roche.**

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : **Harlé et Léchopiez.**

D

Vente des fascicules à l'IMPRIMERIE NATIONALE, 27, rue de la Convention — 75732 PARIS CEDEX 15

La présente invention concerne une nouvelle composition immunostimulante et son application pour le traitement des mammifères, y compris l'homme.

On a trouvé que la composition selon l'invention possède 5 des propriétés immunostimulantes excellentes lorsqu'elle est administrée par voie orale, nasale, respiratoire, rectale ou parentérale.

Ainsi, la présente invention a pour objet une composition immunostimulante contenant :

- 10 du propylène-glycol,
un agent tensio-actif,
de la glycérine,
un agent conservateur,
un tampon p H et
- 15 de l'eau.

La composition selon l'invention se présente avantageusement sous la forme liquide ; le propylène-glycol est avantageusement utilisé à une concentration comprise entre 50 et 200 g/l et la glycérine à une concentration comprise entre 200 et 500 g/l.

- 20 Selon une variante de l'invention, la composition peut contenir en outre de la vitamine A, de la vitamine E ou un mélange de celles-ci.

Selon une autre variante, la composition selon l'invention peu également contenir des antigènes, notamment des antigènes vaccinaux ou microbiens ; dans ce cas, la composition est administrable 25 par une voie quelconque.

Une composition particulièrement préférée selon l'invention contient environ 7,5 à 15 g de propylène-glycol, environ 30 g de glycérine, environ 5 à 15 g de dérivés polyoxyéthylénés de radicaux 30 d'acides gras, un agent tampon de p H pour régler le p H de la composition à une valeur comprise entre 4,5 et 6,5, une quantité convenable d'un agent conservateur, le complément à 100 ml étant constitué par de l'eau.

A titre d'agents conservateurs utilisables dans la composition 35 selon l'invention, on peut citer l'acide sorbique, les produits connus sous les dénominations commerciales "PROGALINE P ou La" (gallate de propyle ou gallate de lauryle).

Comme agents tampons de p H, on peut utiliser, aux fins de l'invention, par exemple le mélange phosphate de sodium/acide 40 citrique.

BAD ORIGINAL

La composition préférée ci-dessus peut en outre contenir également de la vitamine A, de la vitamine E, un mélange de celles-ci, ou bien un ou plusieurs antigènes.

La composition selon l'invention présente des propriétés immunostimulantes surprenantes : on a constaté qu'elle peut être utilisée à des doses journalières allant de 0,01 g à 0,5 g par kg de poids du corps humain, ladite composition étant dans ce cas administrée par voie orale, nasale, respiratoire, rectale ou parentale.

L'invention va être maintenant décrite plus en détail par les exemples non limitatifs donnés ci-après.

EXEMPLE I

On a préparé une composition selon l'invention dénommée ci-après "composition α " en mélangeant les ingrédients ci-après dans les proportions indiquées dans le tableau I ci-dessous pour 100 ml de composition :

TABLEAU I

Ingrédients	Quantité
glycérine	30 g
propylène-glycol	9,83 g
"Tween 80" \equiv	6,66 g
acide sorbique	0,18 g
tampon de pH $\equiv \equiv$	pour un pH de 5,5
eau	qsp 100 ml

\equiv "Tween 80" dénomination commerciale d'un dérivé de polyoxyéthylène de radicaux d'acides gras.

$\equiv \equiv$ le tampon de pH utilisé était un mélange phosphate trisodique/ acide citrique.

EXEMPLE II

On a préparé une autre composition selon l'invention dénommée ci-après "composition β " en mélangeant les ingrédients suivants dans les proportions indiquées dans le tableau II ci-après pour 100 ml de composition :

TABLEAU II

Ingrédients	Quantité
glycérine	30 g

BAD ORIGINAL

TABLEAU II (suite)

2306684

Ingrédients	Quantité
propylène-glycol	9,83 g
"Tween 80"	6,66 g
acide sorbique	0,18 g
Vitamine A	0,33 g
5 tampon de pH Ξ	pour un pH de 5
eau	qsp 100 ml

Ξ le tampon de pH utilisé était un mélange phosphate trisodique/ acide citrique.

10 EXEMPLE III

On a opéré comme dans l'exemple II en mettant en oeuvre à la place de la vitamine A une quantité égale en ^{poids} de vitamine E ; cette composition sera dénommée dans la suite de la description "composition χ ".

15 EXEMPLE IV

On a opéré comme dans l'exemple II en ajoutant une quantité de vitamine E égale à la quantité de vitamine A de la composition, cette composition sera dénommée dans la suite de la description "composition δ ".

20 Essais pharmacologiques

1) Protocole d'essais

On a testé les compositions selon l'invention en traitant des souris de souche homogène (race CD de l'élevage Charles RIVER), toutes les souris étant âgées de 3 semaines environ ; seules
25 les femelles ont été utilisées. Les souris ont toutes fait l'objet d'une double étude de l'immunité humorale :

- 1) d'une part, par l'examen des plaques d'hémolyse selon la technique de JERNE et al [A.A. Plaque forming in agar by simple antibody producing cells - Science 1963 140, p. 405],
- 30 2) d'autre part, par l'étude des anticorps hémagglutinants vis-à-vis des globules rouges de mouton selon une technique bien connue de l'homme de l'art.

On a testé les compositions α , β , χ et δ préparées selon les exemples 1 à 4 ci-dessus.

35 Les souris ont été séparées en lots identifiés de la façon suivante :

- Groupe A_1 : les 12 souris du groupe A_1 n'ont reçu aucun traitement ni aucune immunisation.
- Groupe A_2 : les 12 souris du groupe A_2 n'ont reçu aucune immu-

BAD ORIGINAL

nisation mais ont été traitées pendant 8 jours consécutifs par une injection sous-cutanée de 0,1 ml de la composition 5 selon l'exemple 4.

- 5 - Groupe A₃ : les 12 souris du groupe A₃ n'ont reçu aucune immunisation mais ont reçu pendant 8 jours consécutifs une injection sous-cutanée de 0,1 ml de la composition α selon l'exemple 1.
 - 10 - Groupe B : Les 22 souris du groupe B n'ont reçu aucun traitement mais ont été immunisées par une injection intra-péritonéale de 0,5 ml de suspension à 10 % d'hématies de mouton (provenant de l'Institut Pasteur de Paris) en suspension dans du sérum physiologique.
 - 15 - Groupe C : les souris du groupe C (27 souris) ont reçu pendant 8 jours consécutifs une injection par voie sous-cutanée de 0,1 ml de la composition α et au 3ème jour de ce traitement les souris ont été immunisées selon le mode opératoire décrit pour le groupe B ci-dessus.
 - 20 - Groupe F : les souris du groupe F (10 souris) ont reçu pendant 8 jours consécutifs une injection par voie sous-cutanée de 0,1 ml de composition γ et ont été immunisées au 3ème jour de ce traitement selon le mode opératoire décrit pour le groupe B.
 - 25 - Groupe G : les souris du groupe G (10 souris) ont reçu pendant 8 jours consécutifs une injection par voie sous-cutanée de 0,1 ml de la composition β et ont été immunisées selon le même mode opératoire que pour les groupes C ou F.
 - 30 - Groupe H : les souris du groupe H (18 souris) ont reçu pendant 8 jours consécutifs une injection par voie sous-cutanée de 0,1 ml de la composition δ et ont été immunisées selon le même mode opératoire que les groupes C ou F ou G.
- On a résumé dans le tableau III les conditions de traitement ci-dessus.

BAD ORIGINAL

TABLEAU III

	Groupe	Nombre de souris	Traitement avec	Dose jour- nalière	Durée du traitement	Immunisa- tion
5	A ₁	12	néant	-	-	néant
	A ₂	12	composition δ	0,1 ml	8 jours	néant
	A ₃	12	composition α	0,1 ml	8 jours	néant
	B	22	néant	-	-	oui
10	C	27	composition α	0,1 ml	8 jours	oui
	F	10	composition γ	0,1 ml	8 jours	oui
	G	10	composition β	0,1 ml	8 jours	oui
15	H	18	composition δ	0,1 ml	8 jours	oui

Tous les prélèvements ont eu lieu au 5ème jour après l'immunisation : chez les animaux traités avec une composition selon l'invention, les prélèvements ont donc eu lieu 8 jours après le début du traitement.

20 2. Résultats

On a indiqué dans le tableau IV ci-après le nombre de cellules formant des plaques d'hémolyse sur 10^6 cellules pour chaque souris traitée selon les modes opératoires ci-dessus.

25 Les résultats du tableau IV montrent tout d'abord que les groupes A₁, A₂ et A₃ de souris non traitées constituent un lot homogène sans aucune différence significative dont la moyenne des plaques d'hémolyse est de 22,9 ce qui constitue en quelque sorte le bruit de fond de la méthode. L'immunisation seule (groupe B) dans ces conditions provoque 133,5 plaques d'hémolyse ce qui, déduction faite du
30 bruit de fond, correspond à 110,6 plaques, taux de base moyen de l'immunisation dans les conditions expérimentales utilisées.

Avec la composition α (groupe C), on a obtenu un taux moyen de plaques d'hémolyse de 491,3 (514,2 plaques d'hémolyse moins les 22,9 plaques du bruit de fond), ce qui correspond à une valeur envi-
35 ron 4,44 fois supérieure à celle obtenue par la seule immunisation (groupe B).

Avec la composition δ (groupe H), on a obtenu un taux moyen

BAD ORIGINAL

de plaques d'hémolyse de 622,4 (645,3 plaques d'hémolyse moins les 22,9 plaques du bruit de fond) , ce qui correspond à une valeur 5,63 fois supérieure au taux de base de l'immunisation (groupe B).

Les taux moyens de plaques d'hémolyse obtenus avec les com-
5 positions β et γ ont été respectivement de :

Groupe F : $543,2 - 22,9 = 520,3$

Groupe G : $567,7 - 22,9 = 544,8$

BAD ORIGINAL

TABLEAU IV

NOMBRE DE CELLULES FORMANT DES PLAQUES D'HEMOLYSE SUR 10^6 CELLULES

Groupe A ₁	Groupe A ₂	Groupe A ₃	Groupe B	Groupe C	Groupe F	Groupe G	Groupe H
4	9	6	69	277	473	440	473
13	11	9	80	323	482	451	495
13	12	11	95	345	491	514	510
14	13	21	98	353	513	529	513
17	13	22	102	372	513	531	525
23	16	22	104	385	527	579	526
27	19	24	107	425	555	583	548
28	20	29	110	454	565	630	588
31	20	31	118	466	629	688	655
37	21	31	121	481	684	732	671
43	40	36	127	482			676
47	51	42	132	491			685
			133	491			689
			136	501			703
			139	503			742
			146	510			781
			149	512			893
			160	514			942
			163	530			
			163	539			
			163	565			
			163	574			
			163	633			
			163	722			
			170	750			
			335	823			
				862			

BAD ORIGINAL

REVENDICATIONSà action

1. Composition/immunostimulante, caractérisée en ce qu'elle contient :

- 5 du propylène-glycol,
un agent tensio-actif,
de la glycérine,
un agent conservateur,
un tampon pH et
de l'eau.

à action

- 10 2. Composition/immunostimulante selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle se présente sous forme liquide et en ce que le propylène-glycol est présent à la concentration de 50 à 200 g/l et la glycérine à la concentration de 200 à 500 g/l.

à action

- 15 3. Composition/immunostimulante selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce qu'elle est administrable par voie orale, nasale, respiratoire, rectale ou parentérale.

à action

4. Composition/immunostimulante selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisée en ce qu'elle contient, pour 100 ml de composition, environ :

- 20 7,5 à 15 g de propylène-glycol
30 g de glycérine

- 5 à 15 g d'un dérivé polyoxyéthyléné de radicaux d'acides gras, une quantité efficace d'un agent conservateur, un agent tampon de pH pour obtenir un pH compris entre 4,5 et 6,5 le complément à 100 ml
25 étant constitué par de l'eau.

à action

5. Composition/immunostimulante selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce qu'elle contient en outre une quantité efficace de vitamine A, de vitamine E ou d'un mélange desdites vitamines.

à action

- 30 6. Composition/immunostimulante selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisée en ce qu'elle contient un ou plusieurs antigènes microbiens ou vaccinaux.

BAD ORIGINAL

